

## KELASI KADMIUM DENGAN ASAM FITAT YANG BERASAL DARI RENDAMAN KEDELAI *Glycine max*

Ferry Wijaya Putra<sup>\*</sup>, Jacob L.A. Uktolseja, Susanti Pudji Hastuti

Fakultas Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana

\*Email: [ferrywijaya\\_phx@yahoo.com](mailto:ferrywijaya_phx@yahoo.com)

### ABSTRAK

Biji kedelai (*Glycine max*) mengandung asam fitat yang mampu mengkelasi logam. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi kemampuan kelasi asam fitat dari air rendaman kedelai terhadap logam berat kadmium (Cd). Asam fitat diperoleh dari seri konsentrasi biji kedelai sebesar 0.00, 78.56, 225.08, 371.44, dan 517.96 g.L<sup>-1</sup>. Pada awal penelitian, 1 mL air rendaman biji kedelai dicampur dengan larutan kadmium dengan konsentrasi akhir Cd 4.407 mg.L<sup>-1</sup>. Penelitian dilakukan dengan rancangan acak lengkap dan diulang tiga kali. Semua seri perendaman dapat menurunkan kadar kadmium, berturut-turut sebesar 4.49%, 26.86%, 70.55%, 90.23%, dan 68.91%. Penurunan kadar Cd pada seri 225.08 g.L<sup>-1</sup> tidak berbeda nyata ( $\alpha > 0.05$ ) masing-masing dengan seri 371.44 dan 517.96 g.L<sup>-1</sup>, namun seri 371.44 dengan 517.96 g.L<sup>-1</sup> berbeda nyata ( $\alpha < 0.05$ ). Kesimpulan penelitian adalah asam fitat dari air rendaman kedelai dapat mengkelasi logam berat Cd, sehingga kadarnya menurun. Penelitian ini membuka peluang limbah air rendaman kedelai menjadi media pengkelasi untuk menurunkan logam berat.

**Kata kunci:** asam fitat, air rendaman kedelai, kelasi, Cd

### PENDAHULUAN

Asam fitat adalah zat antinutrisi. Disebut demikian karena asam fitat adalah kelator (pengikat logam) yang baik; mengikat logam yang esensial bagi tubuh. Manusia (dan hewan-hewan agastrik lain seperti burung, babi, dan anjing) tidak memiliki enzim yang dapat mendegradasi asam fitat (Kumar, dkk., 2009). Asam fitat diketahui mengikat logam berat Cd (Bohn, dkk., 2008) sehingga dapat digunakan secara aktif sebagai kelator Cd.

Asam fitat mudah didapatkan; zat ini terdapat dalam bagian biji-bijian dalam tumbuhan. Beberapa contoh tumbuhan dengan biji yang mengandung asam fitat adalah beras, kacang tanah, dan kacang kedelai yang dikonsumsi oleh manusia (Mahesh, dkk., 2015). Dari banyak jenis materi tumbuhan tersebut, kacang kedelai (*Glycine max*) adalah salah satu bahan makanan yang mudah didapat.

Mendapatkan asam fitat dari kedelai tidak sulit; asam fitat larut dalam air. Industri makanan olahan berbasis kedelai seperti tempe dan tahu banyak terdapat di Indonesia karena konsumsi yang tinggi (Sutardi & Buckle, 2004) dan mereka menghasilkan limbah air rendaman kedelai. Cukup dengan merendam (imersi) biji-biji kedelai dan menggunakan air rendaman tersebut, asam fitat sudah bisa didapatkan dan digunakan. Limbah industri tempe dan tahu adalah limbah organik terlarut dan mencemari lingkungan. Diketemukannya manfaat dari asam fitat di dalam limbah industri tempe dan tahu serta memanen asam fitat dari limbah tersebut dapat mengurangi jumlah pencemaran lingkungan oleh limbah industri tempe dan tahu; sehingga terbentuk suatu teknologi tepat guna baru.

Kadmium (Cd) adalah logam berat yang toksik terhadap kehidupan. Cd tergolong sebagai unsur logam berat dan karsinogen grup 1 (Dinis & Fiuza, 2011). Cd toksik terhadap semua jenis kehidupan; mulai dari manusia, tumbuhan, hewan kecil, hingga mikroorganisme. Upaya menghilangkan Cd sudah dapat dilakukan dengan beberapa metode fisika seperti nanofiltrasi, osmosis balik, dan elektrodialisis (Barakat, 2010) atau metode kimia seperti penggunaan bahan adsorpsi EDTA dan hidroksiapatit (Seaman, dkk., 2003). Akan tetapi cara-cara tersebut menimbulkan pertimbangan seperti biaya, keterampilan, dan upaya lain yang tidak cocok untuk diterapkan sebagai teknologi tepat guna. Maka perlu diajukan metode lain, yaitu kelasi logam Cd dengan asam fitat.

Walaupun diketahui bahwa asam fitat memiliki afinitas yang baik untuk mengikat Cd, belum terdapat sebuah uji aplikatif yang membuktikan bahwa Cd dapat berikatan dengan asam fitat yang

didapat langsung dari rendaman kedelai, sehingga penelitian ini perlu dilakukan. Penelitian menggunakan air mengandung Cd dan diberi tambahan asam fitat yang didapatkan dari air rendaman kedelai mentah sebagai perlakuan. Hasil dari penelitian diharapkan akan mendapatkan bukti bahwa asam fitat dari rendaman kedelai dapat digunakan sebagai kelator Cd. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kemampuan kelasi Cd oleh asam fitat yang terdapat dalam air rendaman kedelai.

## METODE PENELITIAN

Asam fitat dapat diekstrak dari kacang kedelai dengan merendam kacang dalam jumlah tertentu (satuan gram per liter). Kacang kedelai yang digunakan adalah kacang kedelai impor dari Amerika Serikat yang dijual di pasar tradisional sebagai bahan tempe dan tahu yang beredar di masyarakat Jawa Tengah, Indonesia. Kacang kedelai ditimbang dengan neraca elektrik, dipindahkan ke gelas Beaker, dan direndam dalam akuades. Seri dari jumlah kacang yang direndam dimulai dari 0.00, 78.56, 225.08, 371.44, dan 517.96 satuan gram per liter. Proses perendaman berlangsung selama 24 jam dalam suhu ambien air 25°C.



**Gambar 1.** Seri Air Rendaman Kedelai (A / 0.00, B / 78.56, C / 225.08, D / 371.44, dan E / 517.96) dengan Satuan Gram Kedelai per Liter Air.

Air rendaman kedelai dipindahkan ke dalam botol Erlenmeyer bertutup untuk setiap kadar rendaman. Air rendaman kedelai didiamkan selama 24 jam untuk mengendapkan partikulat kedelai yang tersuspensi. Air rendaman kedelai siap digunakan sebagai reagen.

Larutan kadmium dibuat dengan melarutkan garam  $\text{CdCl}_2$ . Konsentrasi kadmium dan volume akhir larutan setelah ditambahkan air rendaman kedelai masing-masing adalah  $39.2 \mu\text{M}$  Cd (nilai kadar  $\text{LC}_{50}$   $\text{Cd}^{2+}$  terhadap *Escherichia coli*) (Adam, dkk., 2014) dan 10 ml. Pencampuran menggunakan wadah tabung reaksi.

Sebanyak 1 ml air rendaman kedelai dari setiap kadar dicampurkan dengan larutan  $\text{Cd}^{2+}$ . Untuk mempermudah pengendapan, pH dinaikkan di atas 6 (Persson, dkk., 1998). Campuran dihomogenisasi kemudian didiamkan selama 24 jam agar proses presipitasi berjalan. Filtrat jernih akan terbentuk dan fitat-kadmium mengendap di bawah sebagai koloid.

Kadmium yang tidak ikut mengendap diukur dengan metode kolorimetri beserta kurva standar oleh Jankiewicz, dkk. (2000) yang melibatkan dithizone (diphenylthiocarbazone,  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{S}$ ) sebagai reagen utama. Dithizone larut dalam kloroform (trichloromethane,  $\text{CHCl}_3$ ). Kadmium akan bereaksi dengan dithizone membentuk dithizonat berwarna merah muda yang larut dalam kloroform. Pengukuran absorbansi dithizonat dilakukan dalam panjang gelombang 520 nm. Filtrat yang menjadi sampel pengujian diencerkan  $10^5$  kali terlebih dahulu.

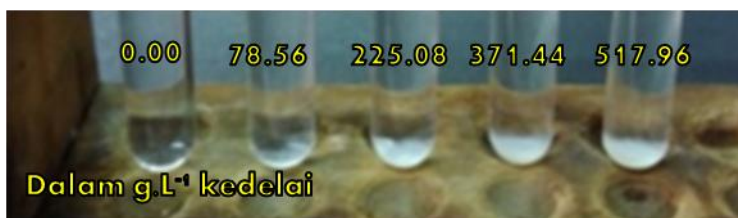
Data berupa persentase pengurangan dari kadar kadmium awal ke kadar kadmium pasca kelasi fitat / residu kadmium. Data dianalisis dengan rancangan acak lengkap (*complete randomized design, one-way ANOVA*) dalam perangkat lunak IBM SPSS Statistics ver 25. Sebelum dianalisis, data dikenakan transformasi resiprokal.



**Gambar 2.** Reaksi Metode Dithizone dengan Kadmium Menghasilkan Fase Kloroform Berwarna Merah Muda di Dasar Corong Pisah.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah air rendaman kedelai bercampur dengan larutan kadmium, terbentuk awan putih di dalam campuran. Awan putih tersebut mengendap dan menghasilkan filtrat jernih di permukaan campuran setelah dipresipitasi dalam gravitasi standar selama 24 jam. Awan putih tersebut dapat menghilang apabila campuran dihomogenisasikan dan akan tetap muncul kembali setelah dibiarkan mengendap. Diperkirakan kadmium terkelasi dalam awan putih tersebut, maka filtrat diuji kandungan kadmiumnya untuk melihat rerata pengurangan kadar kadmium dari konsentrasi awal.



**Gambar 3.** Wujud Awan Putih Di Dasar Campuran Setelah Presipitasi 24 Jam Gravitasi Standar.

Bersama kalsium dan natrium, asam fitat dapat membentuk kompleks dengan rumus kimia  $M\text{Ca}_{3.6}(\text{H},\text{Na})_{2.8}[\text{CH}(\text{PO}_4)]_6$  yang tidak larut (Seaman, Hutchison, Jackson, & Vulava., 2003).  $M$  adalah logam sasaran dengan bilangan oksidasi 2+. Kadmium yang digunakan dalam penelitian adalah kadmium dengan bilangan oksidasi 2+. Berbeda dengan rumus tersebut asam fitat yang digunakan dalam penelitian tidak berikatan dengan natrium terlebih dahulu. Kalsium harus menjadi kopresipitat dalam proses ini, sehingga 12 ikatan di asam fitat (rumus asam fitat ketika berikatan dengan logam dengan bilangan oksidasi 1+ seperti natrium adalah  $\text{Na}_{12}[\text{CH}(\text{PO}_4)]_6$ ) tidak bisa semua terisi oleh kadmium. Hal ini menjelaskan mengapa kelasi kadmium tidak bisa mencapai 100% sesuai dengan perhitungan yang melibatkan informasi oleh Persson, dkk. (1998) bahwa satu molekul fitat dapat mengkelasi rata-rata 5,3  $\text{Cd}^{2+}$ .

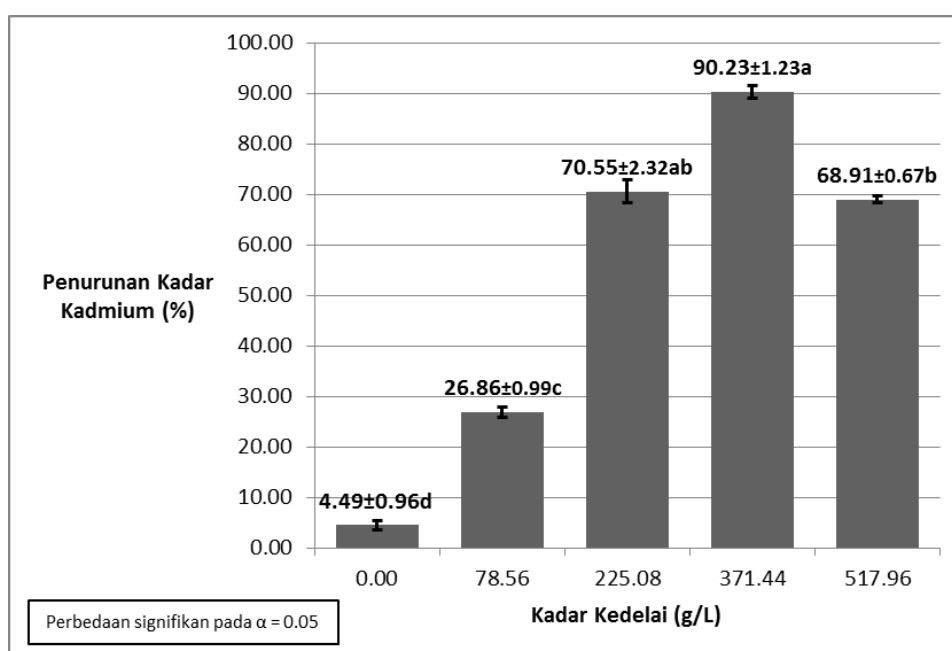
Terdapat pengurangan kadar kadmium yang berbeda untuk tiap taraf dalam seri kadar kedelai yang digunakan. Tolak ukur pengurangan kadar kadmium ditunjukkan sebagai persentase dan konsentrasi awal kadmium sebesar  $4,407 \times 10^6 \text{ mg.L}^{-1}$  adalah tolak ukur / nilai 100%. Untuk kadar kedelai 0.00, 78.56, 225.08, 371.44, dan 517.96  $\text{g.L}^{-1}$  masing-masing menurunkan kadar kadmium sebesar 4.49%, 26.86%, 70.55%, 90.23%, dan 68.91%. Penurunan kadar kadmium tertinggi dicapai oleh air rendaman dengan kadar kedelai 371.44  $\text{mg.L}^{-1}$ .

Pengolahan data persentase pengurangan kadar kadmium dilakukan dengan perangkat lunak IBM SPSS Statistics ver. 25. Diberlakukan transformasi resiprokal terhadap data. Data normal dengan signifikansi dari tiap taraf kadar kedelai 0.00, 78.56, 225.08, 371.44, dan 517.96  $\text{g.L}^{-1}$  masing masing: 0.176, 0.248, 0.372, 0.234, dan 0.280. Data homogen dengan nilai signifikansi 0.106. Hasil

penrhitungan dengan ANOVA menghasilkan nilai signifikan  $<0,0001$ , menyatakan bahwa hipotesis null ditolak.

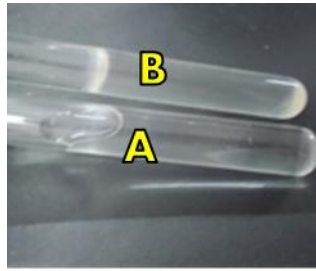
Kelasi kadmium justru mengalami penurunan ketika menggunakan air rendaman pada taraf tertinggi,  $517.96 \text{ g.L}^{-1}$ . Diperkirakan hal ini terjadi karena adanya pengurangan pelarut (air) saat mengekstraksi asam fitat beserta kandungan biji kedelai yang lain. Pelarut (air) masuk ke dalam biji kedelai saat imbibisi terjadi dan mengurangi jumlah pelarut di luar biji kedelai, sehingga ekstraksi tidak berjalan efektif. Kasus ini sejalan dengan demonstrasi Tian, dkk. (2017) dalam mengekstraksi kandungan suatu biji; bahwa ada sebuah titik optimal di antara kadar biji-pelarut tertinggi dan kadar biji-pelarut terendah.

Pemeriksaan statistik dilanjutkan dengan uji *honest significant difference* / HSD Tukey untuk melihat signifikansi perbedaan rerata pengurangan kadar kadmium dari tiap taraf kadar kedelai di air rendaman dengan transformasi resiprokal. Kadar kadmium terendah dimiliki oleh kadar  $371,44 \text{ g.L}^{-1}$ . Dampak dari kadar  $371,44 \text{ g.L}^{-1}$  tidak berbeda nyata dengan kadar  $225,08 \text{ g.L}^{-1}$  dan kadar  $225,08 \text{ g.L}^{-1}$  tidak berbeda nyata pula dengan  $517,96 \text{ g.L}^{-1}$ . Akan tetapi dampak dari kadar  $371,44 \text{ g.L}^{-1}$  dan  $517,96 \text{ g.L}^{-1}$  berbeda signifikan.



**Grafik 1.** Pengurangan Kadar Kadmium dari Konsentrasi Awal ke Residu Proses Kelasi Fitat dalam Seri Kadar Kedelai

Salah satu ide besar penelitian ini dimulai dengan pertanyaan bagaimana cara mengolah air limbah yang mengandung logam dalam kadar letal untuk mikroba. Bakteri yang terdapat dalam komunitas pengolah limbah seperti *B. cereus* (Kalantari, 2008) dan *E. coli* (Adam, dkk., 2014) mengalami gangguan perkembangan populasi oleh keberadaan logam berat seperti Cd. Penelitian ini membuktikan bahwa asam fitat, sebuah kelator yang bisa didapatkan dari rendaman air kedelai, dapat digunakan untuk menurunkan kadar kadmium hingga ke taraf yang dapat ditolerir oleh mikroba. Sehingga tidak lagi diperlukan pembentukan bakteri mutan resisten logam berat (Kermani, dkk., 2010) yang perlu mempertimbangkan waktu dan biaya yang diperlukan untuk memperolehnya.



**Gambar 4.** Indikasi Kontaminasi Mikroba Permukaan pada Air Mengandung Kadmium yang Diberi Air Rendaman Kedelai.

Pada Gambar 4 diperlihatkan kontaminasi yang terjadi pada penelitian pendahuluan. Dua tabung dengan konsentrasi kadmium awal yang sama ( $39.2 \mu\text{M}$ ) dengan pemberian rendaman kedelai dengan taraf yang berbeda. Tabung A dan B mendapatkan air rendaman dengan taraf masing-masing  $78.56$  dan  $225.08 \text{ g.L}^{-1}$ . Mikroba telah membentuk lapisan biomassa pada permukaan tabung B pada Gambar 4 sehingga air dengan kandungan kadmium di bawah lapisan tersebut tertutup dan tidak bergerak ketika dimiringkan. Ada dua hal yang diperkirakan menjadi sebab. Pertama, kelasi-presipitasi kadmium berjalan dengan lebih baik (tabung atas memperlihatkan lebih banyak endapan) seiring dengan bertambahnya kadar kedelai pada rendaman. Sehingga kadar kadmium turun ke taraf yang bisa ditolerir oleh kontaminan tersebut. Kedua, air rendaman dengan kadar kedelai yang lebih tinggi memiliki jumlah nutrisi yang lebih banyak sehingga mendukung kontaminan untuk tumbuh.



**Gambar 5.** Indikasi Kontaminasi Mikroba Melayang pada Air Mengandung Kadmium yang Diberi Air Rendaman Kedelai.

Kontaminasi terjadi pula pada tabung berisi air mengandung kadmium yang lain. Gambar 5 menunjukkan Erlenmeyer yang berisi air mengandung kadmium setelah diberi air rendaman dengan kadar  $371.44 \text{ g.L}^{-1}$ . Endapan awan putih yang terbentuk pada saat pencampuran dilewatkan pada kertas saring, sehingga filtrat bersih dari kompleks kadmium-fitat. Di dalam tabung tersebut ditemukan sebuah gumpalan biomassa yang mengambang. Bagian atas dari biomassa tersebut terdapat bubuk hitam (tabung kanan telah dikocok, sehingga biomassa terbalik) menyerupai spora. Sehingga diperkirakan kontaminan ini adalah kapang.

Kedelai yang digunakan dalam penelitian adalah kedelai impor dari Amerika Serikat yang mudah didapatkan dari pasar tradisional. Telah dikonfirmasi oleh peneliti bahwa kedelai yang sama juga digunakan oleh pelaku industri tempe Bugel, Salatiga. Sebelum penelitian, survei ke industri mereka telah dilakukan. Sampel dari air rendaman kedelai mereka telah diuji kandungan asam fitatnya dan dibandingkan dengan air rendaman kedelai yang dibuat oleh peneliti. Hasil pengujian awal adalah sebagai berikut:

**Tabel 3.** Perbandingan Kandungan Asam Fitat Air Rendaman Industri Tempe dengan Air Rendaman Kedelai Laboratorium

No.	Jenis Air Rendaman	Air	Kandungan Fitat (g/L)
1	Air Rendaman Industri Tempe 1	Direbus	4.316
2	Air Rendaman Industri Tempe 2	Direbus	7.834
3	Air Rendaman Kedelai 225.04 g/L	Tidak direbus	2.414
4	Air Rendaman Kedelai 225.12 g/L	Direbus	5.547
5	Air Rendaman Kedelai 1 g /1.38 ml	Direbus	7.045

Industri-industri tempe kecil di Bugel, Salatiga, tidak menggunakan takaran khusus untuk menentukan jumlah air untuk perendaman. Para pelaku industri menggunakan perkiraan bahwa tinggi akhir air setelah diisi ke tong berisi kedelai adalah dua kali tinggi kedelai. Maka peneliti menggunakan gelas ukur penuh 100 ml yang telah diisi 50 ml kedelai dan mengukur volume air yang dapat mengisi gelas ukur. Didapatkan rasio 1 gram kedelai dapat diisi oleh 1.38 air. Apabila kedelai dalam perendaman bermassa 225.12, maka volum air adalah 310.67 ml.

## KESIMPULAN

Asam fitat dari air rendaman kedelai dapat mengkelasi logam berat Cd, sehingga kadarnya menurun. Penelitian ini membuka peluang penggunaan air rendaman kedelai, yang merupakan limbah pengolahan makanan, sebagai kelator logam berat. Proses kelasi dapat dilakukan sebagai pretreatment limbah berlogam berat sebelum ke pengolahan biologis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, V., Chudobova, D., Tmejova, K., Cihalova, K., Krizkova, S., Guran, R., Kominkova, M., Zurek, M., Kremplova, M., Jimenez, A.M.J., Konecna, M., Hynek, D., Pekarik, V., & Kizek, R.. (2014). *An Effect of Cadmium and Lead Ions on Escherichia coli with the Cloned Gene for Metallothionein (MT-3) Revealed by Electrochemistry*. *Electrochimica Acta*, 140, 11-19.
- Ahluwalia, S.S. & Goyal, D. (2006). *Microbial and Plant Derived Biomass for Removal of Heavy Metals from Wastewater*. *Bioresource Technology*, 98, 2243-2257.
- Barakat M.A. (2010). *New Trends in Removing Heavy Metals from Industrial Wastewater*. *Arabian Journal of Chemistry*. 4, 361-377.
- Bohn, L., Meyer, A.S., & Rasmussen, S.K. *Phytate: Impact on Environment and Human Nutrition. A Challenge for Molecular Breeding*. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*. 9, 3, 165-191.
- Boye, J. & Ribereau, S. (2011). *Assessing Compositional Difference in Soy Products and Impacts on Health Claims, Soybean and Nutrition*. iN Hany El-Shemy (Ed.). *Soybean and Nutrition*. InTech. Rijeka. Croatia.
- Demirkan, E., Baygin, E., & Usta, A. (2014). *Screening of Phytase Hydrolysis Bacillus sp. Isolated from Soil and Optimization of the Certain Nutritional and Physical Parameters on the Production of Phytase*. *Turk J Biochem*, 39, 2, 206-214.
- Dinis, M.DeL. & Fiuza, A. (2011). *Exposure Assessment to Heavy Metals in the Environment: Measure to Eliminate or Reduce the Exposure to Critical Receptors*. In Simeonov, L.I., Kochubovskii, M.V., & Simeonova, B.G. (Eds.). *Environmental Heavy Metal Pollution and Effects on Child Mental Development: Risk Assessment and Prevention Strategies*. Springer Science Business Media.
- Duffin, P.A. (1989). *The Effect of Phytate on Mineral Bioavailability and Heavy Metal Contaminants*. Thesis. University of Surrey.
- Duruibe, J.O., Ogwuegbu, M.O.C., & Ekwurugwu, J.N. (2007). *Heavy Metal Pollution and Human Biotoxic Effects*. *International Journal of Physical Sciences*. 2, 5, 112-118.
- Graf, E., Empson, K.L., & Eaton, J.W. (1987). *Phytic Acid: A Natural Antioxidant*. *The Journal of Biological Chemistry*, 262, 24, 11657-11650.

- Ishak, W.M.F.W., Jamek, S., Jalanni, N.A., & Jamaludin, N.F.M. (2011). *Isolation and Identification of Bacteria from Activated Sludge and Compost for Municipal Solid Waste Treatment System*. IPCBEE, 24, 450-454.
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B.B., & Beeregowda, K.N. (2014). *Toxicity, Mechanism and Health Effects of Some Heavy Metals*. Interdiscp Toxicol, 7, 2, 60-72.
- Jankiewicz, B., Ptaszynski, B., & Wieczorek, M. 2000. *Spectrophotometric Determination of Cadmium (II) in Soil of Allotment Gardens in Łódź*. Polish Journal of Environmental Studies, 9, 2, 83-86.
- Joshi, S., Thatte, K., & Kurve, P. (2013). *Characterization and Identification of Microflora in Activated Sludge Process*. National Conference on Biodiversity: Status and Challenges in Conservation 'FAVEO', 214-218.
- Karkle, E.N.L. & Beleia, A. (2010). *Effect of Soaking and Cooking on Phytate Concentration, Minerals, and Texture of Food-Type Soybeans*. Cienc Tecnol Aliment, Campinas, 30, 4, 1056-1060.
- Kalantari, N. (2008). *Evaluation of Toxicity of Iron, Chromium and Cadmium on Bacillus cereus Growth*. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 10, 4, 222-228.
- Kaswinarni, F. (2007). *Kajian Teknis Pengolahan Limbah Padat dan Cair Industri Tahu*. Tesis. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Kermani, A.J.N., Ghasemi, M.F., Khosvaran, A., Farahmand, A., & Shakibaie, M.R. (2010). *Cadmium Bioremediation by Metal-Resistant Mutated Bacteria Isolated from Active Sludge of Industrial Effluent*. Iran J Environ Health Sci Eng, 7, 4, 279-286.
- Kumar, V., Sinha, A.K., Makkar, H.P.S., & Becker, K. (2009). *Dietary Roles of Phytate and Phytase in Human Nutrition: A Review*. Food Chemistry, 120, 945-959.
- Mahesh, S., Pavithra, G.J., Parvathi, M.S., Rajashekara, R., & Shankar, A.G. (2015). *Effect of Processing on Phytic Acid Content and Nutrient Availability in Food Grains*. International Journal of Agricultural Sciences, 5, 5, 771-777.
- Neevel, H., Reissland, B., Scheper, K., & Fleischer, S. (2007). *Calcium – Phytate Treatment Agent*. Institut Collectie Nederland.
- Nielsen, A.V.F., Tetens, I., & Meyer, A.S. 2013. *Potential of Phytase-Mediated Iron Release from Cereal-Based Foods: A Quantitative View*. Nutrients, 5, 3074-3098.
- Persson, H., Turk, M., Nyman, M., & Sandberg, A.S. 1998. *Binding of Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, and Cd<sup>2+</sup> to Inositol Tri-, Tetra-, Penta-, and Hexaphosphates*. J Agric Food Chem, 46, 3194-3200.
- Seaman, J.C., Hutchison, J.M., Jackson, B.P., & Vulava, V.M. 2003. *In Situ Treatment of Metals in Contaminated Soils with Phytate*. J Environ Qual, 32, 153-161.
- Shimi, G., & Hasnah, H. (2013). *Does Cooking Affect the Phytate Content in Local Soy Based Dishes?* International Food Research Journal, 20, 5, 2873-2880.
- Sparvoli, F. & Cominelli, E. (2015). *Seed Biofortification and Phytic Acid Reduction: A Conflict of Interest for the Plant?* Plants, 4, 728-755.
- Sutardi & Buckle, K.A. (2004). *Characteristics of Phytases from Soybeans and Microorganisms Involved in the Tempe Production*. Jurnal Teknol dan Industri Pangan, 15, 3, 232-238.
- Tian, Y., Wang, Y., Ma, T., Zhu, P., He, J., dan Lei, J. (2017). *Optimization of Subcritical Water Extraction of Resveratrol from Grape Seeds by Response Surface Methodology*. Appli. Sci. 7, 321; doi:10.3390.
- Wignyanto, Hidayat, N., & Ariningrum, A. (2009). *Bioremediasi Limbah Cair Sentra Industri Tempe Sanan Serta Perencanaan Unit Pengolahannya*. Jurnal Teknologi Pertanian, 10, 2, 123-135.
- Wise, A. & Gilbert, D.J. (1981). *Binding of Cadmium and Lead to the Cadmium-Phytate Complex in Vitro*. Toxicology Letters, 9, 45-50.
- Yadav, S.K. (2009). *Heavy Metal Toxicity in Plants: An Overview on the Role of Glutathione and Phytochelatins in Heavy Metal Stress Tolerance of Plants*. South African Journal of Botany, 76, 167-179.